

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 26 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590655

研究課題名(和文) 網羅的マイクロRNA発現解析を用いたクルクミンの新たな抗腫瘍機序の解明

研究課題名(英文) Investigation of a novel anti-cancer effects of curcumin using comprehensive miRNA expression analysis

研究代表者

金井 雅史 (KANAI, MASASHI)

京都大学・医学(系)研究科(研究院)・講師

研究者番号：70432416

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：ウコンに含まれるクルクミンは抗がん作用を有することが多くの基礎研究で証明されており、副作用の少ない抗がん薬としてがん治療への応用が期待されている。吸収効率が悪く、経口から摂取しても十分な血中濃度が得られないという点が臨床応用に際して一番の問題であった。我々は吸収効率が向上した細粒化クルクミンに着目、その安全性について確認し、現在その治療効果を臨床試験で検討中である。これまでに細粒化クルクミン服用投与によりがん患者さんの生活の質が改善したり、がんの抑制に関係するとされているマイクロRNAの量が上昇するという興味深い結果も観察している。今後さらに症例を積み重ねてその結果の検証を目指している。

研究成果の概要(英文)：Many preclinical studies have demonstrated the anti-cancer effect of curcumin and curcumin could be a promising anti-cancer drug with minimal side effects. On the other hand, poor bioavailability has been a major challenge in developing curcumin as an anti-cancer drug. To overcome this problem, a highly bioavailable curcumin has been developed. First, we tested the safety of this new form of curcumin in cancer patients and verified its improved bioavailability as well as its safety. Then, we proceeded to a randomized placebo-controlled clinical trial to demonstrate its efficacy. To date, we have observed the improvement of quality of life or increase of miRNA involved in tumor suppression after curcumin administration. We are now trying to verify these findings in a larger cohort and our final goal is to introduce curcumin into daily clinical practice to treat patients with cancer.

研究分野：臨床薬理学

キーワード：クルクミン がん マイクロRNA QOL

1. 研究開始当初の背景

ウコンに含まれるクルクミンはがん細胞で活性化している NF-kappaB や Stat3 などの転写因子を抑制し抗腫瘍効果を示すことがこれまで 1500 を超える研究論文に報告されている。申請者もクルクミンが胃癌細胞において NF-kappa B の活性化を抑制し、アポトーシスを誘導することを報告している (Gastroenterology, 2001)。現在日常臨床で用いられているピンクリスチン、イリノテカン、パクリタキセルなども元々は植物中に存在する成分から開発された抗がん薬であることから、クルクミンもその臨床応用が期待されている (Cell, 2007)。申請者らは国内で初めてとなるがん患者に対するクルクミンの第 I/II 相臨床試験を行い (UMIN ID 000001386) その安全性と有用性を報告した (Cancer Chemo Pharmacol, 2011)。従来のクルクミンは臨床応用に際しバイオアベイラビリティが低いという問題を抱えていたが細粒化の技術を用い 30 倍以上バイオアベイラビリティが向上した細粒化クルクミンが開発された。申請者らはこの細粒化クルクミンを用いて健常人ボランティアを対象に薬物動態試験を実施し (UMIN ID 000003488) ヒトにおいても高い血中濃度が得られることを確認している (Cancer Chemo Pharmacol, 2012)。

一方、マイクロ RNA (miRNA) は 21-25 塩基程度からなる短鎖 non-coding RNA であり、遺伝子発現の制御を介してがんを含む様々な病態に関与することが示されている。基礎研究ではクルクミンががん細胞の miRNA の発現に影響を及ぼすことも報告されているが (Mol Cancer Ther 2008, Cancer Res 2010)、がん患者におけるクルクミン投与後の miRNA の変化については報告がない。基礎研究で明らかとなっているクルクミンの標的分子である NF-kappa B や Stat 3 の変化をヒト体内のがん組織を用いて観察するためにはクルクミン内服前後の組織検体が必要となるため患者に対する侵襲も大きく現実的には困難であるが、miRNA は末梢血で測定が可能であることから、細粒化クルクミン投与と相関する miRNA が同定されればクルクミン治療のバイオマーカーとなりうるため有望である。

2. 研究の目的

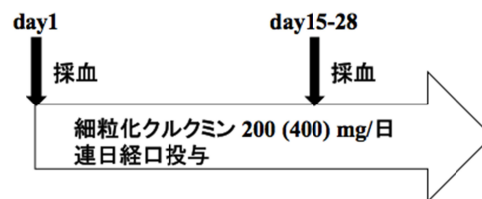
本研究ではバイオアベイラビリティの向上した細粒化クルクミンを用いて、その投与前後における網羅的 miRNA 発現解析を用い、クルクミンの新たな抗腫瘍機序の解明ならびにバイオマーカー探索を目指す。

3. 研究の方法

「膵癌、胆道癌症例に対する細粒化クルクミ

ン補助療法の第Ⅱ相臨床試験」 (UMIN ID 000002950) に登録され、細粒化クルクミンによる試験治療 (レベル 1 200mg/日、レベル 2 400 mg/日) をうけた 7 名の膵癌患者より、細粒化クルクミン投与前後 (投与直前と細粒化クルクミンを 14-28 日間連日投与後に採血。図 1) に採血を行い、網羅的 miRNA 解析を行った (940 種類のヒト miRNA を搭載している Agilent human miRNA microarray Rel 14.0 を使用)。

図 1



4. 研究成果

miRNA は血漿からも測定可能であるが、分担研究者である村上らは血中に存在し細胞膜成分を持つ直径 100nm 程度の小粒子であるエクソソーム中にも miRNA が含まれており、エクソソーム中の miRNA の発現を測定した方が安定した結果が得られるということ報告している (PLoS ONE, 2012)。そこで今回の解析でも末梢血からエクソソームを抽出し、網羅的マイクロ RNA 解析を行った。Bonferroni 法を用いて検定の多重性を補正後も細粒化クルクミン投与後に複数の miRNA が有意に変化するという結果が得られた。その中には、基礎研究で抗がん作用が報告されている miRNA (miR-X とする) も含まれていた (図 2)。膵癌細胞株 BxPC-3 を用いた in vitro の実験でも細粒化クルクミン刺激により 2 時間後より real-time qPCR 法で測定した miR-X が上昇することを確認した (図 3)。

図 2 血中エクソソーム中に含まれる miR-X の細粒化クルクミン服用後の変化

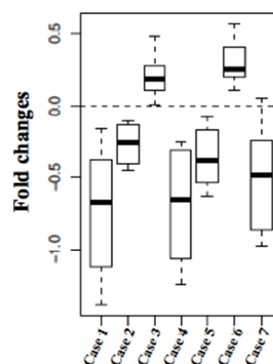
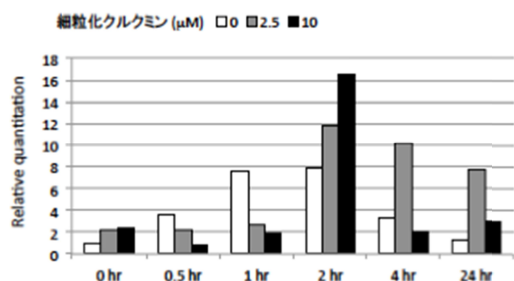


図 3. 膵癌細胞株(BxPC-3)を細粒化クルクミンで刺激後の miR-X の発現変化



刺激後 4 時間以降では 10 μM より 2.5 μM の方で miR-X の発現が高くなるが、10 μM の方が抗腫瘍効果も強いいため、その影響を受けている可能性も考えられる。先述したようにクルクミンの抗がん作用について基礎研究では NF-κB や Stat3 の抑制など様々なメカニズムが報告されているが、がん患者に対するクルクミンを用いた臨床研究の数はまだ限られており、ヒト体内での作用機序はまだ明らかにされていない。もし細粒化クルクミン投与と相関する miRNA が同定されればクルクミン治療のバイオマーカーとなりうるため臨床的意義も大きいと考える。本結果は現在進行中の切除不能膵癌症例に対する細粒化クルクミン補助療法のランダム化第 II 相臨床試験(UMIN ID 000010326)に登録され、試験治療を受けた症例の血液検体を用いて検証を行う予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 6 件)

1. Kanai M.

“Therapeutic application of curcumin for patients with pancreatic cancer” World Journal of Gastroenterology 2014 Jul 28;20(28):9384-9391. Review

2. Xue P, Kanai M., Mori Y, Nishimura T, Uza N, Kodama Y, Kawaguchi Y, Takaori K, Matsumoto S, Uemoto S, Chiba T.

“Comparative Outcomes between Initially Unresectable and Recurrent Cases of Advanced Pancreatic Cancer Following Palliative Chemotherapy” Pancreas 2014 Apr; 43(3): 411-6. Doi: 10.1097/MPA.000000000000050.

3. Xue P, Kanai M., Mori Y, Nishimura T, Uza N, Kodama Y, Kawaguchi Y, Takaori K, Matsumoto S, Uemoto S, Chiba T.

“Neutrophil-to-Lymphocyte Ratio for

Predicting Palliative Chemotherapy Outcomes in Advanced Pancreatic Cancer Patients” Cancer Medicine 2014 Apr; 3(2):406-15. Doi: 1002/cam4.204

4. Kanai M., Otsuka Y, Otsuka K, Sato M, Nishimura T, Mori Y, Kawaguchi M, Hatano E, Kodama Y, Matsumoto S, Murakami Y, Imaizumi A, Chiba T, Nishihira J, Shibata H.

“A phase I study investigating the safety and pharmacokinetics of highly bioavailable curcumin (Theracurmin®) in cancer patients.” Cancer Chemother Pharmacol. 2013 Jun;71(6):1521-30.

5. Shimatsu A, Kakeya H, Imaizumi A, Morimoto T, Kanai M., Maeda S (5 人が共著者) “Clinical Application of “Curcumin”, a Multi-Functional Substance.” Anti-Aging Medicine. 2012 9(1):43-51.

6. Kanai M., Imaizumi A, Otsuka Y, Sasaki H, Hashiguchi M, Tsujiko K, Matsumoto S, Ishiguro H, Chiba T.

“Dose-escalation and pharmacokinetic study of nanoparticle curcumin, a potential anticancer agent with improved bioavailability, in healthy human volunteers” Cancer Chemother Pharmacol. 2012 Jan;69(1):65-70

〔学会発表〕(計 4 件)

1. Kanai M. 招待講演

“Therapeutic application of highly bioavailable curcumin for patients with cancer”

The 2nd International Conference on Pharma and Food, Nov 5, 2014, Shizuoka, Japan

2. Kanai M. 招待講演

“The current guideline of pancreatic cancer in Japan”

Shanghai International Conference on Pancreatic Cancer, August 1-3, 2014, Shanghai, China

3. 「がん治療におけるクルクミンの可能性」

金井雅史

第 134 年会日本薬学会 一般シンポジウム 2014/3/28 熊本

4. 「がん治療におけるクルクミンの可能性」

招待講演

金井雅史

第 9 回日本食品免疫学会 2013/10/17 東京

5. 「ゲムシタピンに抵抗性となった膵癌・胆道癌患者に対するナノ化クルクミン療法

の第 I 相臨床試験」
金井雅史、他 11 名
日本臨床腫瘍学会 2012/7/26 大阪

〔図書〕(計 1 件)
金井雅史、松本繁巳、村上善基
「膵がん領域における miRNA 研究」
遺伝子医学 Mook 23 号, 2012

〔産業財産権〕
○出願状況(計 件)
なし

○取得状況(計 件)
なし
名称：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織
(1)研究代表者
金井 雅史 (KANAI MASASHI)
京都大学 医学研究科 講師

研究者番号：
70432416

(2)研究分担者
村上 善基 (大阪市立大学 医学系研究科
准教授)

研究者番号：
00397556

金井 恵理 (天理医療大学 教授)

研究者番号：
20372584